

Etudes immunologiques sur les trypanosomoses

IV. Observations diverses sur *Trypanosoma congolense*

par G. UILENBERG (*) et M. GIRET (**)

RESUME

Un antisérum contre un variant tardif de *Trypanosoma congolense* n'a montré aucune activité neutralisante sur un type antigénique obtenu au début de l'infection, chez un mouton infecté cycliquement.

Des sérums obtenus de rats et souris 10 à 13 jours après un traitement stérilisant, effectué lors de la première parasitémie après inoculation de trypanosomes, n'ont pas montré une activité neutralisante suffisamment élevée contre le type antigénique injecté, pour que cette méthode semble intéressante pour l'obtention de sérums monovalents. Le comportement de la souche utilisée n'est en outre pas assez régulier chez le rat (à l'opposé de la souris).

Un traitement de moutons au Berenil, à forte dose, ne semble pas influencer les résultats de tests de neutralisation effectués avec du sérum récolté peu de temps après le traitement.

Quelques observations sur la persistance des anticorps contre différents types antigéniques chez des moutons sont donnés.

Des expériences sur les réactions d'agglutination et de lyse avec *T. congolense* ont abouti à des échecs.

INTRODUCTION

A la fin de la série d'études sur l'immunologie de *Trypanosoma congolense* (1, 2, 3), quelques observations complémentaires sont rapportées ici, dont nous pensons qu'elles méritent d'être signalées, malgré leur caractère quelque peu disparate.

Les méthodes générales de travail ont été indiquées auparavant (1).

RECHERCHES ET RESULTATS

a) Les anticorps contre un variant antigénique tardif dans l'évolution n'ont pas d'activité neutralisante sur un type antigénique du début de l'infection

Cette question a été soulevée récemment, lors d'une conférence, par le Dr H. C. Goodman de l'O.M.S. Les participants à la conférence en sont venus à la conclusion qu'il n'y a pas eu d'études pour vérifier si des anticorps spécifiques contre des variants tardifs ont une action sur des types antigéniques du début de l'infection. A l'inverse, le manque d'activité sur un type tardif des anticorps spécifiques contre un type précoce, a bien entendu été prouvé par de nombreux auteurs, et est à la base du phénomène des variations antigéniques.

Institut d'Elevage et de Médecine vétérinaire des Pays tropicaux, 10, rue Pierre Curie, 94700 Maisons-Alfort, France.

(*) Adresse actuelle : F.A.O., Tick Project, P.O. Box 24, Entebbe, Uganda.

(**) Adresse actuelle : Service de l'Elevage. Projet Togo I.E.M.V.T. Dapango, Togo.

Un stabilat de la souche EATRO-325 (lignée 325-I, voir 2) a été fait à partir du sang d'un mouton infecté cycliquement 6 semaines plus tôt. Deux souris ont reçu chacune environ 25.000 trypanosomes du stabilat, par voie intrapéritonéale; puis elles ont été traitées par le Berenil (N.D.) à 10 mg/kg, également par voie intrapéritonéale, lorsque leur parasitémie a atteint au moins 30 millions de trypanosomes par ml de sang, 5 jours après l'infection. Du sérum des souris a été recueilli 10 jours après le traitement.

Des tests ont été faits avec ce sérum dilué au 1/4 (*), ainsi que deux stabilats, celui de 6 semaines ayant servi à préparer l'antisérum, et un stabilat du 7^e jour, pendant l'accès précoce latent, premier type antigénique de la lignée obtenu après l'infection cyclique.

Le sérum des souris ne possédait aucune activité neutralisante sur le stabilat du 7^e jour (toutes les souris du test étaient positives en même temps que les témoins, 5 jours après le test), tandis que le sérum neutralisait partiellement le stabilat de 6 semaines (une neutralisation complète n'a pas pu être obtenue, voir ci-dessous).

Conclusion : les anticorps spécifiques contre un variant tardif n'ont eu aucune activité sur un type antigénique précoce.

b) Essais d'obtention d'antisérums monovalents chez les petits rongeurs de laboratoire

Les moutons ont l'avantage de fournir de grandes quantités de sérum, mais au cours de l'infection ce sérum contient des anticorps contre tous les variants apparus successivement, ce qui rend la comparaison de différents variants compliquée et souvent impossible.

Nous avons essayé d'obtenir des sérums monovalents en infectant des rongeurs de laboratoire avec un stabilat donné, et en éliminant l'infection au Berenil dès que la première parasitémie devenait importante, avant la production d'une variation antigénique.

Dix rats ont été infectés par voie intrapéritonéale avec des stabilats différents de la lignée 325-I, au moins 100.000 trypanosomes par

animal. Trois rats sur 10 seulement sont devenus positifs au cours des 10 jours suivants (nous n'avons pas continué plus longtemps, par crainte d'une variation antigénique); la parasitémie n'est devenue élevée que chez 2 des 3 rats, chez l'un, 7 jours après l'infection (environ 25 millions de trypanosomes par ml), chez l'autre, après 9 jours (environ 7 millions par ml). Le sérum de ces 2 rats a été récolté 10 jours dans un cas, 12 jours dans l'autre, après leur traitement au Berenil. Le taux d'anticorps était assez faible, dans les deux cas les sérums non dilués ne donnaient qu'une neutralisation partielle des stabilats homologues.

Deux souris ont été infectées, par voie intrapéritonéale, avec au moins 300.000 trypanosomes d'un stabilat (de la lignée 325-II); 6 jours plus tard, quand leur parasitémie a atteint au moins 30 millions de trypanosomes par ml, elles ont été traitées au Berenil, et du sérum a été récolté 13 jours après. Dilué au 1/20, il ne neutralisait que partiellement le stabilat homologue.

Ci-dessus, nous venons de relater l'expérience avec le stabilat d'un type tardif de 325-I (traitement des souris 5 jours après l'infection lorsque la parasitémie avait atteint au moins 30 millions/ml, récolte du sérum 10 jours après le traitement; le sérum dilué au 1/4 ne neutralisait que partiellement).

Conclusion : la souche de *T. congolense* utilisée ne se comporte pas de façon assez régulière chez les rats (à l'opposé des souris), pour que cette méthode soit utilisable. Le taux d'anticorps obtenu a été décevant, aussi bien chez les souris que chez les rats (notons qu'il est nécessaire d'utiliser les sérums de souris dilués, étant donné la faible quantité disponible). Il est possible que l'activité des sérums eût été plus élevée s'ils avaient été récoltés plus tôt ou plus tard après le traitement [il n'est pas impossible que le moment de nos récoltes se situe entre le maximum d'anticorps précoces (IgM) et tardifs (IgG)].

c) Influence du Berenil sur le test de neutralisation

Dans une publication précédente (1), nous avons relaté qu'un traitement des moutons au Berenil à 10 mg/kg n'a pas influencé des tests de neutralisation, lorsque les trypanosomes ont

(*) La petite quantité de sérum obtenue n'a pas permis de l'utiliser non dilué.

été exposés à des sérums récoltés 6 et 7 jours après le traitement.

Une expérience supplémentaire a été faite, avec du sérum prélevé le lendemain d'un traitement à 10 mg/kg.

Un stabilat d'une souche de *T. congolense* (EATRO-1712) a été expérimenté dans le test de neutralisation, utilisant un sérum de mouton témoin, et un sérum du même sujet traité au Berenil à 10 mg/kg 24 heures avant la récolte de ce sérum. Les souris témoins et les souris du test sont devenues positives en même temps, de 4 à 5 jours après l'épreuve.

Conclusion : A moins qu'il ne s'agisse d'une souche résistante au Berenil, il ne semble pas que les traitements au Berenil puissent influencer les résultats des tests de neutralisation.

d) Persistance des anticorps chez le mouton

Comme indiqué auparavant, des anticorps contre le « type de base » peuvent persister pendant au moins 7 mois, à un taux suffisant pour la neutralisation complète d'un stabilat de ce type contenant au moins 5 millions de trypanosomes par ml (voir 1, stabilat de M 3 et sérums de M 1).

Depuis, nous avons observé que le taux peut baisser plus rapidement : le type de l'accès latent du mouton M 8 (souche 325-II) est complètement neutralisé par les sérums non dilués du même mouton, récoltés 24, 54 et 98 jours après l'infection; mais lorsque les tests ont été faits avec les sérums dilués au 1/10, il a été constaté que le sérum du 54^e jour neutralisait encore complètement, tandis que celui du 98^e jour ne le faisait plus que partiellement. De plus, le type de l'accès latent du mouton M 9 est neutralisé complètement par le sérum de M 8 du 24^e jour et seulement partiellement par celui du 98^e jour (sérums non dilués) (voir 2 et 3 pour les détails de ces moutons).

Comme il a été dit antérieurement, des anticorps peuvent également persister pendant au moins 7 mois contre des variants apparus après l'accès latent, mais dans un cas le taux en avait baissé après 7 mois (1 p. 50, stabilat du 14^e jour et sérums de M 1, qui donnaient une neutralisation complète 3 et 4 semaines après l'infection, tandis que le sérum de 7 mois ne neutralisait plus que partiellement). Dans d'au-

tres cas le sérum ne semble jamais acquérir une activité dépassant la neutralisation partielle, même utilisé non dilué. Ainsi les sérums du mouton M 6, récoltés 31 et 89 jours après l'infection cyclique par la souche 325-I, ne neutralisent que partiellement le stabilat du 15^e jour après l'infection.

Aucune conclusion générale ne semble possible.

e) Expériences sur d'autres réactions sérologiques que la neutralisation

Afin de pouvoir éviter le test de neutralisation, long, laborieux et onéreux, nous avons fait quelques essais sur l'agglutination et la lyse. Tous ces essais ont été des échecs complets et nous n'en donnerons pas tous les détails.

En ce qui concerne la neutralisation, avec laquelle d'autres auteurs ont connu des échecs, nous nous bornerons à dire que les essais ont été effectués à des températures de 0, 20, 24 et 37° C, avec des durées d'exposition des trypanosomes aux sérums neutralisants variant de 15 mn à 2 h 30 et avec des sérums non dilués ou dilués jusqu'à 1/78.125, non chauffés ou chauffés à 56° C pendant 30 mn, additionnés ou non de complément.

Au cas où parfois des petites agglomérations de 5 ou 10 trypanosomes ont été observées, celles-ci se sont également retrouvées dans les tests témoins, faits avec du sérum négatif.

Des tests de lyse n'ont pas donné de résultats plus heureux. Après 1 heure à 37° C et 1 h 30 à 20° C, les trypanosomes dans le sérum neutralisant, additionné de complément, étaient toujours vivants et avaient un aspect normal. Une autre expérience a été faite à 4° C et 20° C et avec des sérums additionnés de complément ou non; les trypanosomes à 20° C étaient vivants dans tous les sérums après 48 heures, morts après 96 heures; à 4° C ils étaient encore vivants après 6 jours dans tous les sérums, tandis que la mortalité avait commencé après 8 jours, aussi bien dans les sérums témoins que dans les sérums neutralisants, contenant du complément ou non.

Ajoutons que les sérums utilisés avaient tous un pouvoir neutralisant élevé sur les stabilats expérimentés.

SUMMARY

Immunological studies on trypanosomiasis.
IV. Various observations on *Trypanosoma congolense*

A monovalent serum against a late variant type of *Trypanosoma congolense* has not shown any neutralizing activity against a type obtained in the beginning of the infection, in a cyclically infected sheep.

Sera obtained from rats and mice 10 to 13 days after a sterilizing treatment given during the first parasitaemic wave after the inoculation of trypanosomes, did not show a sufficiently high neutralizing power against the antigenic type injected, to make this method of obtaining monovalent sera appear interesting. Moreover, the behaviour of the strain used is not sufficiently regular in rats (as opposed to mice).

A treatment of sheep with a high dose of Berenil does not appear to influence the results of neutralisation tests done with serum taken soon after treatment.

A few observations are given on the persistence of antibodies against different antigenic types in sheep.

Experiments on the agglutination test and the immunolysis test have resulted in failures.

RESUMEN

Estudios inmunológicos sobre las tripanosomiasis.
IV. Observaciones diversas sobre *Trypanosoma congolense*

Un antisero contra un variante tardío de *Trypanosoma congolense* no mostró ninguna actividad neutralizante sobre un tipo antigénico obtenido al principio de la infección, en una oveja cíclicamente infectada.

Sueros de ratas y ratones tomados 10 a 13 días después de un tratamiento esterilizante, efectuado en el momento de la primera parasitemia siguiendo la inoculación de tripanosomas, no mostraron una actividad neutralizante bastante elevada contra el tipo antigénico inyectado para que dicho método parezca interesante para la obtención de sueros monovalentes. Además, el comportamiento de la cepa utilizada no es bastante regular en la rata (lo contrario del ratón).

Un tratamiento de ovejas con Berenil, en dosis elevadas, no parece influir en los resultados de pruebas de neutralización efectuadas con suero recogido poco tiempo después del tratamiento.

Se dan algunas observaciones sobre la persistencia de los anticuerpos contra diferentes tipos antigénicos en ovejas.

Ensayos sobre las reacciones de aglutinación y de lisis con *T. congolense* no tuvieron éxito.

BIBLIOGRAPHIE

1. UILENBERG (G.) et GIRET (M.). Etudes immunologiques sur les trypanosomoses. I. Existence d'un type antigénique de base chez une souche de *Trypanosoma congolense* Broden, 1904 - Variations après transmission cyclique. *Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1972, **25** (1) : 37-52.
2. UILENBERG (G.), MAILLOT (L.) et GIRET (M.). Etudes immunologiques sur les trypanosomoses. II. Observations nouvelles sur le type antigénique de base d'une souche de *Trypanosoma congolense*. *Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1973, **26** (1) : 27-35.
3. UILENBERG (G.) et GIRET (M.). Etudes immunologiques sur les trypanosomoses. III. Essais d'immunisation de moutons contre l'infection cyclique par *Trypanosoma congolense*. *Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1973, **26** (1) : 37-42.